

УДК 535.372

СПОСОБ КОМПЕНСАЦИИ ПАРАЗИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ АБСОРБЦИОННЫХ СВЕТОФИЛЬТРОВ ПРИ РЕГИСТРАЦИИ СПЕКТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Бахтинов П. И., Василькин М. С.

Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С. П. Королёва, г. Самара

При регистрации спектров флуоресценции биообъектов часто возникает необходимость использования светофильтров для отсекающего возбуждающего излучения, интенсивность которого может на несколько порядков превышать интенсивность флуоресценции [1]. Однако при использовании широко распространенных абсорбционных светофильтров возникает помеха, связанная с их собственной флуоресценцией [2]. Уменьшения флуоресценции светофильтров можно добиться путем усложнения оптической схемы регистрирующей аппаратуры, а также использованием интерференционных светофильтров, которые не флуоресцируют [3,4]. Недостатком подобных решений являются более высокие затраты на разработку конструкции стенда или приобретение более дорогих светофильтров.

Предлагаемый метод компенсации паразитной флуоресценции фильтров позволяет использовать в процессе эксперимента недорогие и легкодоступные абсорбционные светофильтры.

На рисунке 1 показана схема экспериментального стенда для регистрации спектров флуоресценции.

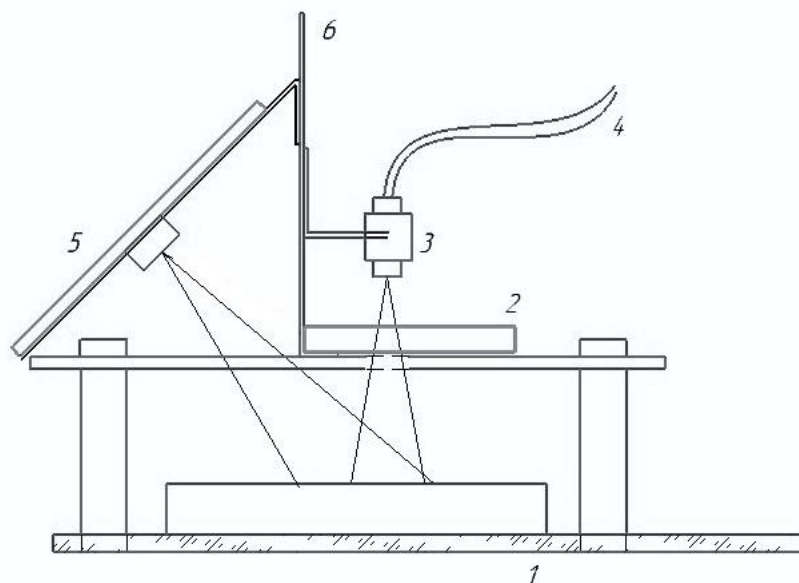


Рис. 1. Схема экспериментального стенда

1 – Кювета с биообъектом; 2 – Светофильтр; 3, 4 – Волоконно-оптический вход спектрометра; 5 – УФ излучающий диод; 6 – Экран

Полученный с помощью данной схемы спектр флуоресценции биообъекта $I_{SF}(\lambda)$ содержит в себе паразитную составляющую, образующуюся в светофильтре 2. Для ее выделения дополнительно регистрируется спектр флуоресценции светофильтра $I_F(\lambda)$, получаемый при установке не флуоресцирующего светорассеивателя (матированной металлической пластины) вместо кюветы 1. Нормировка полученных данных по освещенности светофильтра возбуждающим излучением требует еще двух

дополнительных измерений, выполняемых при установке бесцветного матового стекла вместо светофильтра 2, причем благодаря узкополосности источника излучения (УФ светодиода), в данном случае достаточно определить интенсивности возбуждающего излучения в максимуме его спектра: I_{SD_max} и I_{D_max} – для биообъекта и металлического светорассеивателя соответственно.

С учетом сказанного, «очищенный» от паразитной флуоресценции светофильтра спектр биообъекта определяется выражением:

$$I_s(\lambda) = I_{SF}(\lambda) - I_f(\lambda) \cdot \frac{I_{SDmax}}{I_{Dmax}}$$

На рисунке 2 приведен пример компенсации паразитного излучения светофильтра в спектре флуоресценции зеленых водорослей рода *Chlorococc*. В качестве источника излучения использовались светодиоды с длиной волны 405 нм, применялся абсорбционный светофильтр из стекла ЖС12.

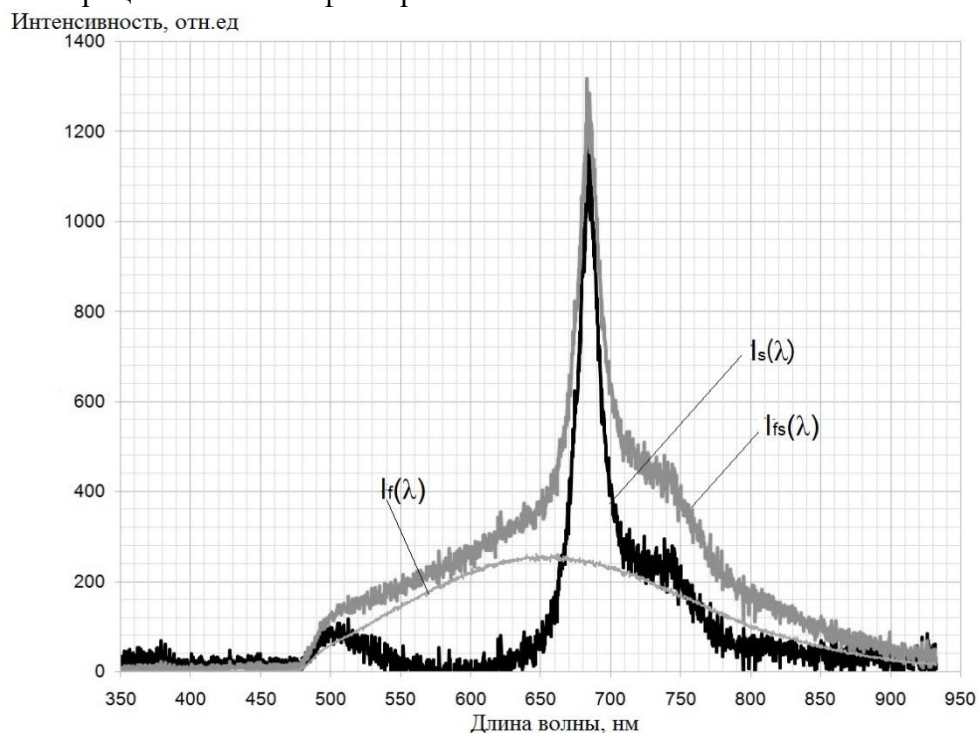


Рис. 2. Флуоресценция биообъектов и светофильтров

$I_s(\lambda)$ – флуоресценция биообъекта (излучение светофильтра скомпенсировано), $I_{fs}(\lambda)$ – флуоресценция биообъекта без учета компенсации, $I_f(\lambda)$ – флуоресценция светофильтра

Как видно из графиков, светофильтр ЖС12 без компенсации вносит значительную погрешность в результат измерения флуоресценции биообъекта. Предложенный способ компенсации паразитной флуоресценции позволяет использовать в процессе эксперимента дешевые и легкодоступные абсорбционные светофильтры, не усложняя при этом конструкцию экспериментального стенда.

Библиографический список

1. Бабушкин А.А., Методы спектрального анализа [Текст]/ А.А. Бабушкин, изд.: МГУ, 1962, 509с.
2. Колтовой Н.А., Флуоресцентные методы. Хемилюминесценция, Москва, 2016, 235с.
3. Turan Erdogan, Optical Filters: Filters for Fluorescence, Semrock, A Unit of IDEX Corporation, 2011
4. Fluorescence and phosphorescence analysts, Hercules, D.M., Editor Wiley-Interscience Publishers, New York, London, Sydney, 1965